

INOCULACION DEL FRIJOL COMUN CON TRES CEPAS SELECCIONADAS DE *Rhizobium leguminosarum* bv. *Phaseoli*¹

Oscar Acuña², Lidieth Uribe²

RESUMEN

Inoculación del frijol común con tres cepas seleccionadas de *Rhizobium leguminosarum* bv. *Phaseoli*. Se evaluaron el efecto de la inoculación con tres cepas seleccionadas de *Rhizobium leguminosarum* bv. *phaseoli* sobre el desarrollo y rendimiento de tres variedades de frijol común en dos localidades de Costa Rica. En la localidad de Puriscal el mayor desarrollo (peso de nódulos, peso seco foliar y contenido de nitrógeno) y rendimiento de la variedad Talamanca se obtuvo con la inoculación con la cepa CR-477 (cepa nativa de Costa Rica), superando la fertilización nitrogenada. Esta misma respuesta se obtuvo con las variedades Criolla y Brunca en la localidad de Los Chiles. Estos resultados demuestran que en las variedades estudiadas, la inoculación con la cepa nativa favoreció grandemente su rendimiento, superando el efecto de las cepas provenientes del CIAT y de la fertilización con 150 kg/ha de nitrógeno. Esto indica el potencial que tiene el uso de la inoculación con cepas altamente efectivas en el cultivo del frijol, donde se puede mejorar su rendimiento con una reducción considerable en los costos de producción, ya que se reduce la cantidad de fertilizante nitrogenado que se debe aplicar al cultivo.

RESUMEN

Inoculation of the common bean with three selected strains of *Rhizobium leguminosarum* bv. *Phaseoli*. Three strains of *Rhizobium leguminosarum* bv. *phaseoli* were tested with three bean varieties, in two different Costa Rica communities: Los Chiles and Puriscal. At Puriscal, the strain CR-477 (a native Costa Rica strain) showed a greater development (nodule dry weight, tissue dry weight and nitrogen content) and higher yields, when used with the bean variety Talamanca. Even greater than the nitrogen fertilizer control. Similar results were showed by the varieties Criolla and Brunca, at Los Chiles. The results showed that with these varieties, the local strain (CR-477) gave better results than strains from CIAT and the chemical fertilizer application (150 kg/ha). The use of inoculants with highly effective strains has shown to have a large potential for yield improvement, at a lower production cost by reducing the amount of fertilizer used.

INTRODUCCION

El frijol constituye una de las leguminosas comestibles más importantes por ser un complemento nutricional indispensable en la dieta de los pobladores de nuestra región. Su cultivo está concentrado en agricultores de pequeñas y medianas extensiones, la mayoría de los cuales no dispone de recursos técnicos ni financieros para su producción y comercialización.

Debido al alto costo de los fertilizantes nitrogenados, una buena opción para incrementar la rentabilidad de este cultivo es mejorar la capacidad simbiótica del frijol con *Rhizobium leguminosarum* bv. *phaseoli*.

Al respecto se ha realizado, en el programa de Frijol de Centroamérica y Cuba aislamientos de cepas nativas que se evalúan en diferentes ambientes a nivel de campo, las mejores cepas se prueban en toda la región y en algunas regiones se ha observado respuesta a la inoculación bajo condiciones limitantes de nitrógeno (CIAT/PROFRIJOL, 1991).

La eficiencia en la fijación biológica de nitrógeno está condicionada a la interacción entre la cepa de *Rhizobium*, el genotipo de la planta y el medio ambiente. Muchos estudios sobre este tema no han tenido buenos resultados debido a que no se consideró alguno de los factores antes mencionados. Por lo tanto, el éxito en las

¹ Presentado en la XLI Reunión Anual del PCCMCA en Honduras, América Central. 26 de marzo - 1 de abril, 1995.

² Centro de Investigaciones Agronómicas, Universidad de Costa Rica.

investigaciones relacionadas con la fijación de nitrógeno, dependerá de si se toman en cuenta dichas condiciones.

El frijol común ha sido considerado como inferior a otras leguminosas de grano en su capacidad de fijar nitrógeno en asociación con su simbionte *Rhizobium leguminosarum* bv *phaseoli*. Varios resultados demuestran, sin embargo, que existe potencial para el incremento de la fijación de nitrógeno en este cultivo con una adecuada combinación entre cepas y cultivares (Paulini, Pessanha y Groszmann, 1969; Westermann *et al.*, 1981; Rennie y Kemp 1983a; 1983b; Rosas y Bliss 1986a; 1986b; Lalonde, Bigwaneza y Antoun, 1990; Uribe, Acuña y Hernández, 1990; CIAT/PROFRIJOL, 1991). En dichos estudios se encontró hasta 100 kg/ha de nitrógeno fijado; en contraste con valores de 40 kg/ha informados anteriormente. Los bajos niveles de fijación obtenidos se deben probablemente al uso de combinaciones ineficientes de cepas y cultivares de frijol, a condiciones ambientales adversas (Rennie y Kemp 1983a; 1983b) y a la presencia en los suelos de cepas nativas inefectivas y muy competitivas.

Una alternativa para los suelos que contienen poblaciones de *Rhizobium* es utilizar inoculantes a base de cepas nativas adaptadas al ambiente (Meade, Higgins y Ogara, 1985). Así como el uso de combinaciones de cepas de *Rhizobium* y variedades de frijol compatibles y capaces de establecerse bajo las condiciones edáficas y ambientales del sitio de siembra.

Los programas de mejoramiento ofrecen una alternativa para mejorar el rendimiento del frijol, el cual requiere de la incorporación de resistencia a enfermedades e insectos más importantes, así como el mejoramiento para tolerancia a factores de suelo y ambientales que causan estrés y limitan los rendimientos en cultivos comerciales y de subsistencia, sin embargo en dichos programas no se considera la capacidad de fijación de nitrógeno.

La necesidad de seleccionar genotipos de *Phaseolus vulgaris* L. con alta capacidad de fijación de N se basa en que en este cultivo, los rendimientos son bastantes bajos comparados con otros, el alto requerimiento de N, el fertilizante nitrogenado es costoso y frecuentemente difícil de obtener, la inoculación no aumenta por sí sola la fijación de N, la planta hospedera constituye un organismo limitante en la simbiosis, se ha observado un gran ámbito de fijación de nitrógeno entre genotipos de frijol y utilizando diferentes combinaciones cepa-cultivar (Rennie y Kemp 1983a; 1983b; Rosas y Bliss, 1986a; 1986b).

En 1990 se inició un proyecto de investigación financiado por el Programa Cooperativo de Frijol de Centroamérica, México y del Caribe (Profrijol)/CIAT, bajo el auspicio de la Corporación Suiza para el Desarrollo (COSUDE), en el que se realizaron investigaciones para la preselección, selección de cepas y evaluación de viveros regionales:

- a. Se evaluaron 75 cepas de *R. leguminosarum* bv *phaseoli* a nivel de campo en tres pruebas de preselección, en la zona Norte y Sur de Costa Rica, seleccionaron doce como cepas promisorias. Estas cepas se encuentran almacenadas en Costa Rica.
- b. Se han efectuado 20 ensayos de selección en todos los países miembros de la red, donde se evaluaron las mejores diez cepas de cada grupo. Como resultado se seleccionaron tres cepas promisorias, por presentar los mejores resultados en las diferentes zonas evaluadas.
- c. Se evaluaron durante dos años, la capacidad de los viveros de frijol rojo y negro centroamericanos (ECARES) para fijar nitrógeno. Se encontraron diferencias tanto en nodulación como en rendimiento en condiciones de bajo nitrógeno mineral. Sin embargo los resultados obtenidos no han sido consistentes, por lo que se debe enfatizar en ensayos con variedades o líneas promisorias con ciertas características favorables como tolerancia a enfermedades y alto rendimiento y bajo diferentes condiciones ambientales.
- d. Se cuenta con una metodología adecuada para la preselección y selección de cepas a nivel de campo (CIAT/PROFRIJOL, 1991)

Los resultados hasta ahora obtenidos han demostrado que la fijación biológica de nitrógeno (F.B.N.) es un estrategia viable para incrementar la producción, además es de bajo costo y contribuye a la sostenibilidad de la producción de los cultivos. Hace falta, sin embargo, continuar con la selección de cepas promisorias a fin de disponer de un germoplasma adecuado para la región y evaluar líneas o variedades con alto potencial.

MATERIALES Y METODOS

Para conocer el potencial de tres cepas seleccionadas en frijol, se sembró un experimento a nivel de finca en la localidad de Puriscal y dos en la localidad de Los Chiles. Estas son zonas consideradas como productoras de frijol en Costa Rica y se caracterizan por poseer

suelos clasificados como ultisoles, con bajo pH y poca disponibilidad de nutrimentos, así como de fuerte pendiente. La variedad de frijol utilizada en el experimento de Puriscal fue la Talamanca, mientras que en Los Chiles se emplearon la Brunca y una criolla.

Se prepararon inoculantes a base de turba con las tres cepas seleccionadas como promisorias en los ensayos realizados el año anterior en cada zona, la CR 477, CIAT 151 y CIAT 613 para el ensayo de Puriscal y la CR 477, CIAT 613 y Kim 5 para los de Los Chiles. Estos se aplicaron a razón de 1g de inoculante por metro lineal (Somasegaran y Hoben, 1985).

Además de los tratamientos de inoculación se tuvieron dos testigos, uno sin inoculación y otro sin inoculación y fertilizado con 150 kg N/ha, usando como fuente de Urea.

La parcela experimental consistió de seis surcos de 4 m de largo separados 0,5 m. La distancia entre plantas fue de 0,2 m. La siembra se realizó a espeque, colocando dos semillas por golpe. Todas las parcelas se fertilizaron con 100 kg de P₂O₅/ha, se usó como fuente triple superfosfato.

El diseño experimental usado fue el de bloques completos al azar con cuatro repeticiones.

En la etapa de desarrollo R7 se muestrearon cinco plantas por parcela y se evaluó el peso seco de nódulos, peso seco de la parte aérea y contenido de nitrógeno foliar (CIAT, 1988). A la cosecha se midió el rendimiento por parcela útil.

RESULTADOS Y DISCUSION

Variedad Talamanca

En el Cuadro 1, se observan los valores de peso seco de la parte aérea, peso seco de nódulos y contenido de nitrógeno en la etapa de desarrollo R7, y rendimiento del frijol para cada tratamiento, analizado en el experimento sembrado en Puriscal con la variedad Talamanca.

Se obtuvo una respuesta altamente significativa en la variable peso seco de la parte aérea, en donde el tratamiento inoculado con la cepa CR 477 presentó el valor más alto (26,7 g), seguido de la cepa CIAT 613, con 21,3 g. La cepa CIAT 151 y el testigo con nitrógeno presentaron los valores más bajos (19,6 y 16,5 g. respectivamente), Cuadro 1.

Cuando se analizó el peso seco de nódulos también se obtuvo una respuesta altamente significativa. La inoculación con la cepa CR 477 mostró el mayor peso seco con 126,9 g. Los demás tratamientos, incluyendo los testigos, se ubicaron dentro de un mismo grupo estadístico, con valores inferiores a 50,9 g (Cuadro 1).

Con la variable de contenido de nitrógeno se obtuvo la misma respuesta, en donde la inoculación con la cepa CR 477 presentó una concentración de 710,2 mg de N en la parte aérea del frijol, mientras que los otros tratamientos tuvieron concentraciones inferiores a 548,3 mg (Cuadro 1).

A pesar de que el experimento se vio afectado por factores ambientales que limitaron el desarrollo del

Cuadro 1. Respuesta de *Phaseolus vulgaris* var Talamanca a la inoculación con tres cepas promisorias de *Rhizobium* en la localidad de Puriscal. 1992. ^{1/}

Tratamiento ^{2/}	Peso aéreo* (g/5 plantas)	Peso nodulos** (mg/5 plantas)	No. total	Rendimiento** (kg/ha)
CR 477	26,7 a	127 a	710	792,0 a
CIAT 613	21,3 ab	42 b	548	397,3 b
CIAT 151	19,6 b	37 b	488	497,3 b
N-	21,1 ab	51 b	508	290,7 b
N+	16,5 b	23 b	446	457,3 b
CV	11,7%	47,5%	17,9%	18,31%

^{1/} Letras diferentes implican diferencias significativas según Tukey al 5%.

^{2/} N- Control sin inocular; N+ Control al que se aplicó.

* Significativo al 5%.

** Significativo al 1%.

cultivo, especialmente por exceso de lluvias, se logró llevar hasta la cosecha. Se obtuvo respuesta altamente significativa entre el tratamiento inoculado con la cepa CR 477 y los demás tratamientos. La inoculación con esta cepa presentó rendimientos de 792,0 kg/ha, mientras que los otros mostraron rendimientos menores a 497,3 kg/ha (Cuadro 1).

Hubo respuesta favorable a la inoculación con la cepa CR 477, en todas las variables evaluadas. En el suelo clasificado como ultisol, no había alta población de cepas nativas, reflejado ésto en la poca nodulación del tratamiento testigo.

Se deben validar los resultados obtenidos con la cepa CR 477 en esta localidad y con la variedad de frijol Talamanca para así corroborar la respuesta obtenida, especialmente en el rendimiento del frijol.

Los Cuadros 2 y 3 muestran los resultados obtenidos con la aplicación de los diferentes tratamientos evaluados sobre las variables peso seco de la parte aérea, peso seco de nódulos y contenido foliar de nitrógeno en la etapa de desarrollo R7, así como el rendimiento a la cosecha, en las variedades Brunca y criolla sembradas en la localidad de Los Chiles.

Variedad Brunca

Se obtuvo una respuesta estadísticamente significativa en la variable peso seco de la parte aérea, donde el tratamiento inoculado con la cepa CR 477 presentó el mayor valor, con 31,4 g, seguido del testigo fertilizado con 150 kg N/ha con 28,7 g. El menor valor se obtuvo

con el tratamiento sin inoculación, con 16,8 g (Cuadro 2).

El peso seco de nódulos presentó respuestas altamente significativas entre los diferentes tratamientos. Los mayores pesos se obtuvieron en las parcelas inoculadas con las cepas CR 477 y CIAT 613, que presentaron valores de 85,7 y 57,8 g respectivamente (Cuadro 2). El tratamiento sin inoculación mostró un peso de nódulos de 9,0 g, valor que no fue estadísticamente diferente al obtenido en el tratamiento con nitrógeno y con la cepa Kim 5. Esto demuestra una pobre población de cepas nativas en el suelo utilizado y la no respuesta a la inoculación con la cepa Kim 5, bajo las condiciones en que se realizó el experimento.

Se encontró una respuesta altamente significativa de los diferentes tratamientos sobre el contenido foliar de N. El tratamiento fertilizado con nitrógeno y el inoculado con la cepa CR 477 presentaron los mayores contenidos, con 847,2 y 831,5 mg respectivamente. Nuevamente se observa que el tratamiento testigo presentó el valor más bajo (392,2 mg), tal como se observa en el Cuadro 2. La inoculación con las otras cepas no favoreció el contenido de N en las plantas de frijol (Cuadro 2).

Cuando se evaluó el rendimiento se obtuvo una respuesta significativa, en donde la fertilización nitrogenada y la inoculación con la cepa CR 477 presentaron los valores mayores, de 1,800 y 1,660 Kg/ha respectivamente. La inoculación con las otras cepas no favoreció el rendimiento del frijol, por lo que hasta el momento no se pueden recomendar en siembras

Cuadro 2. Respuesta de *Phaseolus vulgaris* var Brunca a la inoculación con tres cepas promisorias de *Rhizobium* en la localidad de El Parque, San Carlos. 1992.^{1/}

Tratamiento ^{2/}	Peso aéreo* (g/5 plantas)	Peso nodulos** (mg/5 plantas)	Nitrógeno total	Rendimiento** (kg/ha)
CR 477	31,4 a	86 a	813 a	1660,2 a
CIAT 613	20,2 bc	58 a	458 b	858,0 b
KIM 5	17,0 c	16 b	393 b	929,5 b
N-	16,8 c	9 b	392 b	1036,8 b
N+	28,7 ab	17 b	847 a	1800,2 b
CV	29,1%	33,6%	28,1%	17,2%

^{1/} Letras diferentes implican diferencias significativas según Tukey al 5%.

^{2/} N- Control sin inocular; N+ Control al que se aplicó.

* Significativo al 5%.

** Significativo al 1%.

Cuadro 3. Respuesta de *Phaseolus vulgaris* var Brunca a la inoculación con tres cepas promisorias de *Rhizobium* en la localidad de El Parque, San Carlos. 1992. ^{1/}

Tratamiento ^{2/}	Peso aéreo* (g/5 plantas)	Peso nodulos** (mg/5 plantas)	Nitrógeno total	Rendimiento** (kg/ha)
CR 477	31,4 a	86 a	813 a	1660,2 a
CIAT 613	20,2 bc	58 a	458 b	858,0 b
KIM 5	17,0 c	16 b	393 b	929,5 b
N-	16,8 c	9 b	392 b	1036,8 b
N+	28,7 ab	17 b	847 a	1800,2 b
CV	29,1%	33,6%	28,1%	17,2%

^{1/} Letras diferentes implican diferencias significativas según Tukey al 5%.

^{2/} N- Control sin inocular; N+ Control al que se aplicó.

* Significativo al 5%.

** Significativo al 1%.

comerciales realizadas con la variedad Brunca en la localidad antes mencionada (Cuadro 2).

Variedad criolla

En la variedad criolla se obtuvo respuesta estadísticamente significativa, en las variables peso seco de la parte aérea y peso seco de nódulos, y altamente significativa en el contenido foliar de N y rendimiento (Cuadro 3). El mayor peso seco de la parte aérea se obtuvo con el tratamiento fertilizado con N, con 24,6 g, seguido del inoculado con la cepa CR 477 con 19,5 g, aunque este valor no difiere de los demás tratamientos (Cuadro 3).

Los tratamientos inoculados con las cepas CR 477 y CIAT 613 presentaron los mayores valores de peso seco de nódulos, con 49,0 y 34,0 g respectivamente. La fertilización con N afectó la nodulación, la cual fue de 4,0 g (Cuadro 3).

Cuando se evaluó el efecto de los tratamientos sobre el contenido foliar de N se encontró que éste fue mayor con la fertilización nitrogenada, con 686,0 mg, el testigo sin inocular presentó un valor de 236,0 mg. Dentro de los tratamientos de inoculación la cepa CR 477 mostró los mayores valores, pero no se diferenció del testigo (Cuadro 3).

La mayor producción de frijol se obtuvo con el tratamiento inoculado con la cepa CR 477, seguido del tratamiento fertilizado con 150 kg/ha de N, con 1538 y 1413 kg/ha. La menor producción se tuvo con el tratamiento testigo (1003,8 kg/ha). No se obtuvo una

respuesta favorable sobre el rendimiento con la inoculación de las cepas CIAT 613 y Kim 5 (Cuadro 3).

Los resultados obtenidos con esta variedad mostraron que la inoculación con las cepas evaluadas no afectó favorablemente el comportamiento de las variables de crecimiento estudiadas, ya que la fertilización con nitrógeno logró incrementar el desarrollo del frijol sobre los demás tratamientos. Esto también ocurrió cuando se evaluó el efecto de los tratamientos sobre el rendimiento, pero en este caso el rendimiento obtenido con la cepa CR 477 no difirió estadísticamente del fertilizado, favoreciendo así el rendimiento en unos 500 kg/ha cuando se comparó con el testigo (Cuadro 3).

Hubo una respuesta diferencial entre las cepas inoculadas y la variedad de frijol empleada, de allí que se recomienda continuar estudios destinados a la obtención de una buena respuesta entre cepas recomendadas en las variedades utilizadas por los agricultores.

LITERATURA CITADA

- CIAT 1988. Simbiosis leguminosa-*Rhizobio*. Manual de Metodos. Cali, Colombia. CIAT. 178p.
- CIAT/PROFRIJOL, 1991. Proyectos regionales de investigación. Informes anuales Abril 1990-Marzo 1991. Documento de Trabajo N 91/2. Programa cooperativo regional de frijol para Centro América, México y el Caribe. Panamá. 369p.
- LALANDE, R.; BIGWANEZA, P.C.; ANTOUN, H. 1990. Symbiotic effectiveness of strains of *Rhizobium*

- leguminosarum* by *phaseoli* isolated from soils of Rwanda. Plant and Soil 121: 41-46.
- MEADE, J.; HIGGINS, P.; O GARA, F. 1985. Studies on the inoculation and competitiveness of a *Rhizobium leguminosarum* strain in soils containing indigenous *Rhizobia*. Appl. Environ. Microbiol. 49:899-903.
- PAULINI, A.E.; PESSANHA, G.G.; GROSZMANN, A. 1969. Competição de variedades de Feijao prêto (*Phaseolus vulgaris* L) na época "da seca" na Baixada Fluminense. Agronomía 27(3-4):61-70.
- RENNIE, R.J.; KEMP, G.A. 1983a. N fixation in field beans quantified by N isotope dilution. 1. Effect of strains of *Rhizobium phaseoli*. Agron. J. 75:640-644.
- RENNIE, R.J.; KEMP, G.A. 1983b. N fixation in field beans quantified by N isotope dilution. 2. Effect of cultivars of beans. Agron. J. 75:645-649.
- ROSAS, J.R.; BLISS, F. 1986a. Mejoramiento de la capacidad de fijación de nitrógeno en frijol común. Ceiba 27 (1): 105-116.
- ROSAS, J.R.; BLISS, F. 1986b. Improvement of the nitrogen fixation potential of common bean in Latin América. Ceiba 27 (1) : 245- 259.
- SOMASEGARAN, P.; HOBEN, J.H. 1985. Methods in legume-*Rhizobium* technology. Nifital proyect and Mircen, Paia, Hawaii 367p.
- URIBE, L.; ACUÑA, O.; HERNANDEZ, G. 1990. Respuesta de *Phaseolus vulgaris* var Negro Huasteco a la inoculación con tres cepas de *Rhizobium* bajo condiciones de mínima labranza en tres localidades de Costa Rica. Agronomía Costarricense 14:201-206.
- WESTERMANN, D.T.; KLEINKOPF, G.E.; PORTER, L.K.; LEGGETT, G.E. 1981. Nitrogen sources for bean seed production. Agron. J. 73:661-664.